Lane Medical Library

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Berlin
(Direktor: Professor Dr. Trendelenburg).

Ueber Reagenzglasversuche bei anaphylaktischen Tieren

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde an der Friedrich Wilhelms-Universität zu Berlin

von

Theodor Auerbach
aus Berlin

Tag der Promotion: 20. 7. 1931

142

Gedruckt mit Genehmigung
der
medizinischen Fakultät der Friedrich-Wilhelms-Universität Berlin

---

Dekan: Geh.-Rat Prof. Dr. Stoeckel
Referent: Prof. Dr. Schilf
Korreferent: Prof. Dr. Steudel

Einleitung.

Während die Ansicht über die Lokalisation der anaphylaktischen Erscheinungen lange Zeit zwischen der humoralen und der zellulären Theorie schwankte, wendet man sich heute im allgemeinen der zellulären Theorie als der richtigen zu. D. h. es wird nicht mehr angenommen, daß das Blut der Ort der anaphylaktischen Reaktionen sei, sondern daß diese sich an der Zelle selbst abspielen. Diese Klärung der Ansichten ist besonders den Arbeiten von Schultz, Coca und Dale (citiert nach Doerr, Feldberg und Schilf) zu verdanken. Wenn wir nun die anaphylaktischen Erscheinungen in die Zelle selbst verlegen, so ist hier wieder zwischen zwei verschiedenen Theorien über die Wirkung und Angriffsweise an der Zelle selbst zu unterscheiden. Beide Richtungen fassen die anaphylaktischen Erscheinungen als Antigen-Antikörper-Reaktion auf. Die eine Richtung sieht in dem Wirkungsmechanismus des anaphylaktischen Geschehens an der Zelle eine rein kolloidale Veränderung in der Zelle ähnlich der Praecipitinreaktion; diese Ansicht wird besonders von Doerr vertreten. Die andere Richtung glaubt, daß den anaphylaktischen Erscheinungen ein neu entstandener Stoff als auslösendes Moment zugrundeliege. Es wird angenommen, daß dieser Stoff Histamin oder histaminähnlich sei und bei der Antigen-Antikörper-Reaktion frei würde, um dann zu den anaphylaktischen Erscheinungen zu führen. Besonders ist in diesem Zusammenhang an die Lehre vom H-Stoff von Th. Lewis zu denken (nach Doerr, Feldberg und Schilf) und an die Beobachtungen Dales etc. Manche Autoren glaubten, daß dieser histaminähnliche Körper bei der Reinjektion des Antiges durch Proteolyse entstehe (Aronson). Dieser Ansicht ist besonders Friedberger entgegengetreten, der jedoch in erster Linie die Gifttheorie aufstellte. Er nannte den hypothetischen Stoff, der zu den anaphylaktischen Erscheinungen führen sollte, be-

kanntlich Anaphylatoxin. Ich habe nun unter Zugrundelegung dieser Annahme versucht, das Freiwerden eines Stoffes, der dem Anaphylatoxin entsprechen sollte, im Experiment nachzuweisen. Nach einem Versuche Manwarings schien die Möglichkeit eines solchen Nachweises besonders gegeben. Denn Manwaring beschreibt, mit 100ccm Leberblut eines anaphylaktischen Hundes die typische Symptomentrias des Hundeschocks (Kontraktion der Blase, des Darmes und des Uterus) bei einem nicht sensibilisierten Hund ausgelöst zu haben (citiert nach Doerr). Er glaubte auf Grund dieses Experimentes auf das Vorhandensein eines Leberanaphylatoxin schließen zu dürfen, unter dem er sich ebenfalls einen histaminähnlichen Stoff vorstellte. Zum weiteren Beweis seiner Ansicht verband er in einem weiteren Versuch die untere Körperhälfte eines normalen Hundes mit dem Kreislauf eines vorbehandelten (sensibilisierten) Tieres. Nach der Erfolgsinjektion traten typische, allerdings geringgradige Kontraktionen der Harnblase und des Rektums auf. Desgleichen zeigte die Darmschlinge eines normalen Hundes, die ebenfalls in den Kreislauf eines sensibilitierten Tieres eingeschaltet wurde, deutliche Kontraktionen. Ferner hat Manwaring Transplantationen von Lebern sensibilisierter Tiere auf unsensibilisierte vorgenommen. Nach der Eiweißinjektion sah er nicht nur Blutdrucksenkung, sondern ebenfalls wieder Kontraktionen der Darm- und Harnblasenmuskulatur bei den unsensibilisierten Tieren. Diese Versuche wirkten besonders überzeugend. Es mag als besondere Stütze für die zelluläre Theorie noch erwähnt werden, daß es Manwaring durch Uebertragung größerer Mengen Blut eines im anaphylaktischen Schock befindlichen Hundes nicht gelang, die Resultate zu erzielen, die er bei den oben erwähnten Versuchen nach Uebertragung von nur 100 ccm Lebervenenblut fand (Doerr, Feldberg und Schilf). Es soll damit gesagt werden, daß auch nach diesem Versuch auf das Gebundensein des Anaphylatoxins an die Leberzelle geschlossen werden mußte, da es nur im Leberblut und nicht im Gesamtkreislauf nachweisbar war. Es sollte nun in meinen Versuchen gezeigt werden, ob und wie weit sich ein solches Anaphylatoxin in vitro in der Zelle des „Schock-Organs“ nachweisen läßt. Bereits Dale hatte ähnliche Vitro-Versuche gemacht; er ist aber

dabei nicht von der Organzelle ausgegangen, sondern hat Organextrakte benutzt. Seine negativen Resultate konnten m. E. immer noch damit erklärt werden, daß — immer natürlich unter der Hypothese der Existenz eines Anaphylatoxins — die lebende intakte Zelle zur Produktion dieses Anaphylatoxins unentbehrlich ist; dann könnte eine anaphylaktische Reaktion unter Ausschluß der Zelle als Produktionsstätte des reaktionsauslösenden Körpers natürlich niemals eintreten, d. h. die Organextrakte wären eben nicht imstande gewesen, ein Anaphylatoxin zu produzieren. Auf Grund dieser Ueberlegungen habe ich bei eigenen Versuchen Organe benutzt, und zwar habe ich mich der sogen. Schockorgane bedient, in der weiteren Annahme, daß diese, wenn sie auch das Anaphylatoxin nicht allein produzieren, es doch in der höchsten Konzentration enthalten müssen. Dafür sprachen zunächst die oben citierten Versuchsergebnisse Manwarings. Weiter hat Watanabe (zitiert nach Feldberg und Schilf) nachgewiesen, daß die Meerschweichen-Lunge und die Hundeleber, also die Schockorgane der betr. Tierspezies, im Stadium der Ueberempfindlichkeit einen vermehrten Gehalt an Histamin bezw. histaminähnlichen Stoffen aufzuweisen haben, deren Verwandtschaft bezw. Identität mit dem Anaphylatoxin wie bereits oben betont von vielen Autoren angenommen wird. (Th. Lewis, Ebbecke etc. nach Doerr, Feldberg und Schilf). Ich bediente mich der bekannten Daleschen Versuchsanordnung, nach der ein Darmstück oder der Uterus eines virginellen Meerschweinchens im Tyrodebad mit einem Schreibhebel verbunden wird, der die Größen-Veränderungen des Darmes bezw. Uterus auf ein Kymographion aufzeichnet. Nur modifizierte ich die Versuchsanornung insofern, als ich ein Darmstück eines unsensibilisierten Tieres nahm, während zu den sonstigen anaphylaktischen Versuchen natürlich sensibilisierte Organe verwendet werden. Es wurde dann dem Tryodebad zerkleinerte Organsubstanz (Meerschweinchenlunge bezw. Hundeleber) zugesetzt, die von sensibilisierten Tieren nach der üblichen Latenzzeit stammten. Die Organe wurden dabei nur grob mit der Schere zerkleinert, um die Zellen möglichst zu schonen. Zur Prüfung auf vorhandene Ueberempfindlichkeit wurde aus jeder Impfreihe jedesmal ein Tier durch Erfolgsinjektion in einen anaphylak-

tischen Schock versetzt. Nachdem die Organteile dem Tryodebad zugesetzt waren, wurde weiterhin das zur Sensibilisierung der Tiere benutzte Antigen (ich benutzte Pferdeserum) zugefügt, um dann die Wirkung auf den unsensibilisierten Darm zu beobachten. Es mußte nach meiner Annahme analog dem von Manwaring beschriebenen Hundeversuch ein eventuell freiwerdendes Anaphylatoxin den unsensibilisierten Meerschweinchendarm in einen anaphylaktischen Zustand versetzen und zu einer Kontraktion bringen, die dann auf dem Kymographion abzulesen wäre.

Die Versuche zeigten folgendes: Zu den ersten Versuchen wurden Meerschweinchen benutzt, die mit 0,5 ccm Pferdeserum subcutan sensibilisiert waren (Gewicht 650—800gr).

Kurve I zeigt nach Zusetzen von 1 ccm Pferdeserum zu dem Tyrodebad, in dem sich die zerkleinerte Meerschweinchenlunge befand, überraschenderweise eine starke Senkung. Darauf wurde der Darm sofort ausgespült und ein Leerversuch unternommen, d. h. es wurde zur reinen Tyrodelösung ohne Organsubstanz 1 ccm Pferdeserum zugesetzt.

Kurve II zeigt diesen Versuch, der ohne Einfluß auf die Kurve bleibt.

In Kurve III wird der gleiche Versuch wie sub I mit der Lunge eines zweiten sensibilisierten Meerschweinchens vorgenommen. Es ergibt sich nach Serumzusatz wieder eine Senkung, wenn auch von bedeutend geringerem Umfang als in der 1. Kurve. Darauf wurde nach Ausspülen des Darmes eine Auswertung mit Histaminlösung 1 : 1 Million (0,01 mg) vorgenommen, die eine deutliche Reaktion in Kurve IV gibt.

In Kurve V findet sich wieder eine starke Senkung, die nach Serumzusatz zu der zweiten Lunge des zweiten Versuchstieres eintrat.

Es reagierte also in dieser Versuchsreihe die Lungensubstanz auf Zusatz des Antiges, Pferdeeiweiß, jedesmal mit einer Senkung, die dagegen bei Zusatz des Pferdeeiweißes zu dem leeren Tyrodebad ausblieb. Im Kontrollversuch mit der Lunge eines unsensibilisierten Meerschweinchens bleibt auf Serumzusatz jede Veränderung aus.

Zu einer zweiten Versuchsreihe wurden Meerschweinchen von 375—400 gr Körpergewicht benutzt, die mit 0,02 ccm

Pferdeserum subcutan sensibilisiert waren.

Kurve 1 zeigt Auswertung des Darmes mit Histaminlösung 1 : 1 Million (0,01mg).

Kurve 2 Auswertung des gleichen Darmes mit Histaminlösung 1 : 10 Millionen (0,001mg).

Kurve 3, Lungenversuch: Die Kurve zeigt nach Serumzusatz (1 ccm Pferdeserum) eine starke Steigerung, die jedoch nicht als völlig zuverlässig anzusehen ist; darauf Ausspülung und in

Kurve 4 Auswertung mit Histaminlösung 1 : 10 Millionen.

In Kurve 5 und 6 Leerversuch (Zusatz von 1 ccm Pferdeserum zum Tyrodebad), die keinen Einfluß auf die Kurve zeigt.

Kurve 7 Lungenversuch; nach Serumzusatz (1 ccm Pferdeserum) tritt eine allmählich ansteigende und wieder abfallende Tonussteigerung ein. Die darauf in den

Kurven 8, 9 und 10 vorgenommene Prüfung der Eigenbewegung des Darmes (gegen die Nullinie gemessen) ergab nur Rhythmusschwankungen, aber kein kontinuierliches Steigen oder Fallen des Tonus.

Die nächsten Kurven wurden 3 Tage später von der gleichen Serie von Versuchstieren angefertigt.

Kurve 11 Auswertung mit Histaminlösung 1 : 1 Million.

Kurve 12 nach Serumzusatz (1 ccm Pferdeserum) zur Lungensubstanz tritt Senkung ein. Eine während des gleichen Versuches ohne Ausspülung des Darmes zu der Lungensubstanz zugesetzten Inejktion von 1 ccm Tyrode bewirkt keine Veränderung der Kurve.

Es sollte mit diesem Versuche (Tyrodezusatz) ausgeschlossen werden, daß ein mechanischer Insult, etwa die Injektion in die umgebende Flüssigkeit, die Senkung verursachen könnte.

Kurve 13 Auswertung mit Histaminlösung 1 : 1 Million, nach Ausspülen des Darmes.

Kurve 14 zeigt nach Zusatz des Antiges (1 ccm Pferdeserums) zur Lungensubstanz überhaupt keine Veränderung.

Es wurden also in dieser Versuchsreihe keine einheitlichen Resultate erzielt.

Die folgende Versuchsreihe umfaßte Meerschweinchen von 3—400 gr Körpergewicht, die ebenfalls mit 0,02 ccm Pferdeserum subcutan sensibilisiert wurden.

Kurve I zeigt nach dem Antigenzusatz (1ccm Pferdeserum) zu dem Lungenpräparat eine fragliche Tonussteigerung.

In Kurve II Auswertung mit Histaminlösung 1 : 1 Mill.

Kurve III läßt nach Zusatz von Antigen (1ccm Pferdeserum) zum Lungenpräparat wieder die in den ersten Versuchen hervorgetretene plötzliche Senkung erkennen, an die sich allerdings hier eine ebenfalls fragliche Tonussteigerung anschließt. Darauf nach Ausspülung des Darmes Auswertung in

Kurve IV mit Histaminlösung 1 : 1 Million.

Ein in Kurve V vorgenommener Leerversuch (Zusatz von 1 ccm Pferdeserum zum leeren Tyrodebad) bleibt wieder ohne Einfluß auf die Kurve.

Kurve VI a Auswertung des Darmes mit Histaminlösung 1 : 10 Millionen.

Kurve VI zeigt wieder sofortige Senkung mit anschließender Tonussteigerung nach Antigenzusatz (1 ccm Pferdeserum) zum Lungenpräparat.

Kurve VII Auswertung des Darmes mit Histaminlösung 1:10 Millionen.

Kurve VIII Leerversuch, der wieder keine Veränderung zeigt.

Kurve IX: es tritt nach Serumzusatz zum Lungenpräparat wieder Senkung ein. Die Kurve ist jedoch nicht genau zu verwerten, da der Darm Ermüdungserscheinungen zeigt, deshalb in Kurve X Auswertung eines neuen Darmes mit Histaminlösung 1:110 Mill.

Kurve XI ergibt nach Antigenzusatz (1 ccm Pferdeserum) zum Lungenpräparat wieder sofort eintretende Senkung mit anschließender Tonussteigerung (gegen Nullinie gemessen).

Im Leerversuch Kurve XII zeigt sich wieder keine Veränderung.

Es hat also auch diese Versuchsreihe völlig uneinheitliche Resultate ergeben. Es wurde dann noch ein Versuch mit der

Lunge eines unsensibilisierten Meerschweinchens gemacht. Die Kurve zeigte nach Serumzusatz keinerlei Veränderungen.

Die nächsten Versuche wurden mit Hundeleber vorgenommen. Die Versuchstiere wurden mit 0,3 ccm Pferdeserum pro kg Körpergewicht sensibilisiert und zwar erhielten sie nach Manwarings Vorgehen diese Dosis erst subcutan und nach 2 Tagen in gleicher Stärke intravenös.

In Kurve 1 Auswertung des Darmes mit Histaminlösung 1:1 Million.

Kurve 2 zeigt nach Zusatz von 3 ccm Pferdeserum zum Leberpräparat keine Aenderung des Kurvenverlaufs.

Kurve 3a und 3b: Hier ist eine leichte Tonussteigerung nach Antigenzusatz (3 ccm Pferdeserum) zum Leberpräparat eingetreten. Es wird bei der Marke H 0,01 Histaminlösung zu dem Leberpräparat zugesetzt, das die Tonussteigerung erst deutlich macht.

Die folgenden Kurven stammen aus der gleichen Versuchsreihe (gleiches Impfdatum).

Kurve 4: Auswertung des Darmes mit Histaminlösung 1:10 Millionen.

Kurve 5: Auf Zusatz von 3 ccm Pferdeserum zum Leberpräparat keine Veränderung der Kurve.

In Kurve 6 Auswertung des Darmes mit Histaminlösung 1:10 Millionen.

Diese beiden letzten Versuchsreihen zeigen also ebenfalls widersprechende Resultate.

Auswertung: Die oben angeführten Ergebnisse zeigen keine einheitlichen Resultate. Als häufigste Erscheinung trat nach dem Antigenzusatz zum Präparat eine sofortige Senkung ein, in manchen Fällen gefolgt von einer Tonussteigerung des Darmes. Diese trat auch manchmal allein, d. h. ohne vorhergehende Senkung auf, nur in einem Falle (der zudem zweifelhaft ist) konnte ein sofortiger steiler Anstieg der Kurve abgelesen werden. In einzelnen Fällen bleibt der Verlauf der Kurve unbeeinflußt vom Antigenzusatz. Die anfänglich beobachtete Senkung bot eine gewisse Ueberraschung, da ein solches Resul-

tät nach dem ganzen Wesen der anaphylaktischen Auswirkung am Darmpräparat nicht zu erwarten war, besonders als die Leerversuche zeigten, daß diese Senkung kein zufälliges Abfallen des Darmtonus oder eine Beeinflussung durch das Antigen allein zur Ursache hatte. Jedoch haben sich unabhängig von anaphylaktischen Vorgängen derartige Senkungen bei Arbeiten mit Lungensubstanz auch anderweitig gezeigt. Diese Mitteilung verdanke ich Herrn Dr. Feldberg, der nachträglich unabhängig von meinen Versuchen das gleiche Phänomen beobachtete. Auch mag es nicht unwichtig sein, darauf hinzuweisen, daß sich bei den Leberversuchen niemals eine Senkung gezeigt hat (allerdings unter Berücksichtigung der geringen Zahl der Leberversuche). Demnach scheint es sich tatsächlich um eine für das Lungengewebe spezifische Reaktion zu handeln. Es kann also dieses Phänomen nicht als anaphylaktisches angesprochen werden und verdient höchstens als Nebenbefund eine Erwähnung. Es bleibt also nur die in mehreren Fällen beobachtete allmähliche Tonussteigerung. Der einmal vorgekommene plötzliche Anstieg der Kurve nach Antigenzusatz ist oben schon als unsicher charakterisiert worden, kann also ebenfalls nicht in Betracht gezogen werden. Die bei den Lungenpräparaten mehrmals beobachtete allmähliche Tonussteigerung zeigt sich nun bei den Leberversuchen nur einmal. In den 5 im Ganzen beobachteten Fällen ist sie zweimal fraglich und nur dreimal sicher, also nur 3 sichere Fälle unter 15 Organversuchen. Nach allen für die anaphylaktischen Experimente aufgestellten Forderungen kann aber eine Erscheinung, die wie hier die allmähliche Tonussteigerung nicht nur nicht konstant, sondern sogar nur in einem ganz geringen Bruchteil der Fälle auftritt, nicht als sichere anaphylaktische Reaktion aufgefaßt werden. Ferner ist darauf hinzuweisen, daß das Ausbleiben dieser Tonussteigerung gerade bei den Leberversuchen Manwarings eingangs zitierten Versuchen in gewissem Sinne widersprechen würde; denn es müßte auf Grund dieser Versuche Manwarings angenommen werden, daß, wenn diese Erscheinung bei den Lungenversuchen als anaphylaktische auftritt, sie bei den Leberversuchen sich erst recht bemerkbar machen müßte. Wenn auch nach dem bisherigen Verlauf der Versuche diese Tonussteigerung ursächlich nicht erklärt werden kann, so ist sie doch

m. E. als anaphylaktisches Phänomen abzulehnen. Es ergibt sich aus den Versuchen unter Zusammenfassung der Beobachtungen der Schluß: Es ist nicht gelungen, in vitro mit den Schockorganen sensibilisierter Tiere nach Antigenzusatz eine sichere anaphylaktische Reaktion auf einen unsensibilisierten Meerschweinchendarm auszuüben. Damit konnte auch der beabsichtigte Nachweis des hypothetischen Anaphylatoxins — jedenfalls mit der eingeschlagenen Methode — nicht erbracht werden, und es muß m. E. der negative Ausfall der Versuche mit als Gegenbeweis gegen die Existenz eines besonderen Anaphylatoxins gewertet werden.

Literatur.

Bethes Handbuch für Physiologie, Bd. XIII, S. 750/812.
Handbuch der pathog. Mikroorganismen, Band I, S. 901 u. ff. Band III, S. 469 u. folg.
Feldberg und Schilf, Histamin.

Lebenslauf.

Ich, Theodor Auerbach, wurde am 25. Oktober 1899 als Sohn des Kaufmanns Semmy Auerbach in Berlin geboren. Ich besuchte zuerst das Helmholz-Realgymnasium, dann das Maximilian Gymnasium in München, dann das Leibniz-Gymnasium in Berlin. Im Jahre 1917 wurde ich zum Felddienst eingezogen und konnte daher erst im Jahre 1919 nach Rückkehr aus dem Felde im Kriegsteilnehmerkursus des Friedrich-Wilhelms-Gymnasiums meine Reifeprüfung ablegen. Anschließend ließ ich mich sofort in die medizin. Fakultät der Friedrich-Wilhelm-Universität einschreiben, mußte jedoch im Jahre 1921 aus wirtschaftlichen und familiären Gründen mein Studium unterbrechen. Im Jahre 1924 konnte ich mein Studium wieder aufnehmen. Im Jahre 1927 legte ich das Staatsexamen ab, danach absolvierte ich mein praktisches Pflichtjahr im Krankenhaus Lankwitz, in dem ich jetzt als Assistenzarzt beschäftigt bin.